

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1908

No

THÈSE

POUR

Le Doctorat en Médecine

Présentée et soutenue le Jeudi 5 Novembre à 1 heure

PAR

Jules DURANTON

Ancien Interne provisoire des Hôpitaux de Paris

Médaille de Bronze de l'Assistance Publique

Né à Saint-Germain-des-Fossés, le 28 Avril 1881

LA CHOLESTÉRINE

ET

Ses Conditions de Précipitation

PRÉSIDENT : M. CHANTEMESSE, PROFESSEUR

JUGES : MM. HUTINEL, PROFESSEUR

ALB. ROBIN, PROFESSEUR

CASTAIGNE, AGRÈGÉ

PARIS

HENRI JOUVE, ÉDITEUR

15, RUE RACINE, 15

—
1908



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1908

No

THÈSE

POUR

Le Doctorat en Médecine

Présentée et soutenue le Jeudi 5 Novembre à 1 heure

PAR

Jules DURANTON

Ancien Interne provisoire des Hôpitaux de Paris

Médaille de Bronze de l'Assistance Publique

Né à Saint-Germain-des-Fossés, le 28 Avril 1881

LA CHOLESTÉRINE

ET

Ses Conditions de Précipitation

PRÉSIDENT : M. CHANTEMESSE, PROFESSEUR

JUGES : MM. HUTINEL, PROFESSEUR

ALB. ROBIN, PROFESSEUR

CASTAIGNE, AGRÉGÉ

PARIS

HENRI JOUVE, ÉDITEUR

15, RUE RACINE, 15

1908



A MES PARENTS

A MES AMIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR CHANTEMESSE

Professeur d'Hygiène
Membre de l'Académie de Médecine
Officier de la Légion d'honneur

A M. LE DOCTEUR LOUIS FOURNIER

Médecin des Hôpitaux

M. le Dr Fournier a bien voulu nous donner le sujet de notre thèse. Il nous a aidé de ses conseils. Nous le prions d'agréer nos sincères remerciements et de croire à notre profonde reconnaissance pour la sympathie qu'il n'a cessé de nous témoigner depuis le début de nos études médicales.

A LA MÉMOIRE DU PROFESSEUR CORNIL

A MES MAÎTRES D'EXTERNAT

MM. LE DOCTEUR FOURNIER L. Externat 1904-1905
LE DOCTEUR HALLOPEAU — 1905-1906
LE DOCTEUR LESAGE — 1906-1907
LE DOCTEUR DUFOUR { Internat provisoire
LE DOCTEUR BARBIER { 1907-1908

A MES MAÎTRES DANS LES HOPITAUX

MM. LE PROFESSEUR BAR
LE PROFESSEUR GILBERT
LE PROFESSEUR agrégé MARION
LE DOCTEUR LUCAS-CHAMPIONNIÈRE
LE DOCTEUR BÉCLÈRE
LE DOCTEUR CHEVRIER

A MES MAÎTRES DE L'HOPITAL PASTEUR

MM. LE DOCTEUR MARTIN
LE DOCTEUR VEILLON

Hommage de profonde reconnaissance.

A MONSIEUR LE DOCTEUR RUULT

LA CHOLESTÉRINE

ET SES

Conditions de Précipitation

CHAPITRE PREMIER

Introduction

Le rôle important que joue la cholestérine dans l'économie, sa présence dans la plupart des substances organiques et en particulier dans les calculs biliaires, rendent très intéressante l'étude de ses propriétés physico-chimiques et de ses conditions de précipitation.

La présence de la cholestérine fut signalée par Conradi en 1775 dans les calculs biliaires. Quelques années plus tard, en 1788, Green montra qu'elle entrait pour une grande part dans la formation des calculs biliaires. Au commencement du siècle der-

nier, Chevreul (1) chercha à établir quelles étaient les propriétés chimiques de la cholestérine. Mais ce n'est qu'en 1859 que Thudichum eut l'idée de rechercher les causes qui amenaient sa précipitation dans la bile ; il émit l'hypothèse que c'était sous l'influence de modifications chimiques de ce milieu que se produisait cette précipitation. Frerichs pensa que ce phénomène était le résultat d'altérations locales de la bile et Meckel attribua aux modifications inflammatoires de la muqueuse épithéliale de la vésicule biliaire le rôle prépondérant dans la formation des calculs. La muqueuse enflammée sécrète un mucus qui détermine une fermentation de la bile ; celle-ci devient acide et la cholestérine est précipitée.

Bouchard, en 1882, pensa que la cause de cette précipitation de la cholestérine ne devait pas être recherchée dans des altérations locales, mais dans des modifications de l'état général. De même que la goutte, le rhumatisme, le diabète, l'obésité, la lithiase est une diathèse. C'est le ralentissement des échanges organiques qui amène la formation des calculs.

« La cholestérine peut se précipiter, dit Bouchard, si elle est introduite ou produite en excès ou si elle n'est pas brûlée dans l'organisme, si, par conséquent, elle arrive en trop forte proportion dans le liquide biliaire.

1. Chevreul. *Annales de Chimie*, 1815, t. xcv, p. 7.
Annales de Chimie et de Physiologie, 1816, t. II, p. 346.

« Elle se précipite si elle ne trouve pas pour la dissoudre des savons ou des sels biliaires alcalins, si, par conséquent, les acides gras font défaut, soit par insuffisance alimentaire des graisses, soit par maladies du pancréas, soit par acidité de l'intestin, soit même par saponification insuffisante dans le sang. Elle se précipite aussi si les acides biliaires font défaut, si le foie est inerte ; elle se précipite encore si les acides gras ou si les acides biliaires ne trouvent pas en proportion suffisante la potasse et la soude avec lesquelles ils doivent former les sels alcalins, si donc les alcalis manquent dans l'alimentation, soit à l'état de carbonates, soit à l'état de sels organiques.

« Elle se précipite encore si l'alcalinité de la bile est amoindrie, ce qui peut résulter du défaut des alcalis alimentaires, de l'acidité du tube digestif, de la production excessive ou de l'insuffisante combustion des acides dans l'organisme. »

Galippe, en 1886, pensa que ces modifications chimiques de la bile qui amènent la précipitation de la cholestérine étaient dues non pas à un ralentissement des échanges organiques, mais à l'action de microbes divers.

La présence de micro-organismes au centre des calculs lui fit soupçonner que ceux-ci pouvaient provoquer des actions chimiques variées, des dédoublements amenant la précipitation de substances qui restaient dissoutes à l'état normal.

Jusqu'à cette époque, on admettait que la bile

jouissait d'un pouvoir antiseptique puissant, empêchant le développement de tout microorganisme. Les recherches de Charrin et Roger, de Dominici, qui dans sa thèse affirme « que la bile est un aussi bon milieu de culture que le bouillon ordinaire », de Hanot et Letienne vinrent démontrer que si la bile est en général aseptique à l'état normal, elle peut dans les cas pathologiques être envahie par des microbes; permettant ainsi de considérer l'infection comme cause possible de la précipitation de la cholestérine. Letienne montra, en outre, que le développement des microbes dans les voies biliaires produit presque toujours une précipitation des éléments de la bile, alors même qu'on n'observe aucun symptôme clinique.

Mais c'est surtout Naunyn qui, au Congrès de Wiesbaden; en 1891, combattit la théorie diathésique, il se déclara ferme partisan de l'origine infectieuse de la lithiase biliaire. Sous l'action des microorganismes qui remontent dans la vésicule, grâce au ralentissement de l'écoulement de la bile, il se produirait une angiocholite desquamative qui provoque le dépôt des éléments constitutifs du calcul. Mais, le petit nombre de cas où il trouva des microorganismes dans les calculs ne lui permit pas d'affirmer que l'infection était la cause nécessaire de la précipitation de la cholestérine et des autres matériaux solubles de la bile.

Les travaux remarquables de Gilbert et de ses élèves vinrent confirmer l'exactitude de cette hypothèse.

En 1894, Gilbert et Dominici montrèrent la présence de microbes vivants dans près d'un tiers des calculs examinés par eux ; Hanot et Letienne, Gilbert et Fournier, dans diverses communications, obtinrent des résultats semblables. « On pourrait objecter, dit Fournier (1), que les microorganismes ont été accidentellement englobés au moment de la précipitation des éléments des calculs et que leur présence ne prouve en rien qu'ils aient joué un rôle dans la formation des concrétions ; on pourrait également penser qu'ils ont pénétré secondairement dans les calculs préalablement formés. » Cette pénétration secondaire s'observe, en effet, fréquemment dans les calculs de cholestérine pure et Fournier en fit la preuve *in vitro*. De plus cet auteur signale encore dans sa thèse 43 cas sur 70 où l'on n'a pas trouvé de microbes dans les calculs ; en outre, ses tentatives de reproduction expérimentale restaient infructueuses. Aussi, nombre d'auteurs admettaient la théorie de Bouchard : la précipitation de la cholestérine est le résultat d'une diathèse, jusqu'au jour où expérimentalement, on put reproduire cette précipitation chez les animaux et montrer ainsi le rôle indiscutable de l'infection. Gilbert et Fournier obtinrent, au moyen du colibacille, un petit calcul chez le lapin et Mignot présenta trois petits calculs obtenus de la même façon. Mignot établit, en outre, que si le bacille typhique et le colibacille étaient le plus souvent la cause

1. Fournier. Thèse de Paris, 1896, p. 36.

de la précipitation de la cholestérine, ils n'étaient pas seuls capables de la produire. Il montra que leur présence était si nécessaire, que des corps étrangers aseptiques introduits dans la vésicule ne déterminent aucune précipitation tandis que s'il y a en même temps infection la précipitation est certaine, à condition toutefois que les microbes soient peu virulents.

De nos jours les recherches se sont multipliées. La nécessité de l'intervention de l'épithélium biliaire dans la précipitation de la cholestérine fut discutée. Aschoff refuse d'accorder à l'inflammation de la muqueuse biliaire le rôle que Naunyn a voulu lui attribuer. Ehret et Stolz, Riedel pensent que les calculs, alors même qu'ils se présentent dans une vésicule biliaire avec cholécystite, ne sont pas le résultat de l'inflammation. Gérard, en 1905, montra que le colibacille est capable de précipiter la cholestérine d'une solution de sels biliaires saturée de cette substance. Kramer obtint *in vitro*, en faisant agir sur la bile des microbes variés, des résultats analogues. Il semble donc, d'après ces auteurs, que c'est uniquement par des modifications chimiques, produites par les microbes, que se précipite la cholestérine.

Les travaux récents de Gilbert et Lipmann qui ont montré le rôle des anaérobies dans la constitution des calculs biliaires et réduit à 18 0/0 le nombre des cas où l'on ne trouve pas de bacilles, les recherches expérimentales de Hirsch, de Bacmeister prou-

vent le rôle capital, indiscutable que jouent les microbes dans la précipitation de la cholestérine.

Nous nous proposons après avoir exposé dans un premier chapitre les propriétés physiques, chimiques et physiologiques de la cholestérine, de rechercher quelles sont *in vitro* ses conditions de précipitation. Nous exposerons dans un autre chapitre quels ont été les résultats obtenu *in vivo* par différents auteurs et nous essaierons de déterminer quel est le rôle de l'épithélium biliaire et celui du microbe dans la précipitation de la cholestérine.

CHAPITRE II

Propriétés physiques, chimiques et physiologiques de la cholestérine

La cholestérine est un corps quaternaire dont la formule n'est pas nettement établie, car il existe plusieurs variétés de cholestérine. La plus commune répondrait à la formule $C^{26}H^{44}+H^2O$. Mais à côté de celle-ci on en rencontre d'autres de formules différentes $C^{25}H^{42}O$ et $C^{27}H^{46}O$ avec lesquelles elle est souvent mélangée.

La cholestérine existe dans la plupart des tissus chez les animaux et les végétaux. Chez ces derniers, on la trouve dans les graines de céréales surtout en voie de germination, dans les amandes, les carottes, le gluten, le lupin, etc. Chez l'animal à l'état normal sa présence a été signalée par Bibra, Gmelin dans le cerveau où elle est en grande abondance (16,42 o/o dans la substance blanche, 3,43 o/o dans la substance grise), par Gmelin dans le contenu intestinal, par Burchard dans le rein, le pancréas, les ovaires, les glandes surrénales, par Marcet dans la rate. Dans les liquides de l'organisme, Chevreul, Gmelin ont signalé sa présence dans la bile, Bondet, Denis,

Gmelin dans le sang où elle paraît incorporée aux globules plutôt que dissoute dans le plasma.

A l'état pathologique, on la trouve dans les kystes, les loupes, le pus, dans la plupart des exsudats. Mais c'est surtout dans les calculs biliaires qu'elle existe en grande abondance. Ritter sur 958 analyses l'a constatée 955 fois. Elle entre d'ailleurs dans des proportions variables dans la composition des calculs dont certains contiennent jusqu'à 98 o/o de cholestérine.

Aux dépens de quels éléments se forme la cholestérine ? Dérive-t-elle des graisses, des albuminoïdes ou des hydrates de carbone ? Son origine est des plus obscures. Pour certains auteurs, et pour Hugounenq et Doyon en particulier, elle se formerait là où les matières grasses se détruisent, mais le fait n'est pas constant. D'autres auteurs se basant sur l'analogie de production des calculs biliaires et des calculs urinaires ont supposé que la cholestérine dérivait des albuminoïdes par réduction.

Quoi qu'il en soit, sa présence dans la plupart des tissus indique que c'est une substance qui leur est nécessaire et qui doit être utilisée par eux. « Il peut se faire, dit Bouchard, qu'ils (les tissus) la reçoivent du sang, il peut se faire qu'ils la fabriquent et qu'ils en livrent une partie au sang. Ce qui est certain, c'est que la cholestérine du sang ne peut venir des tissus que pour une part minime, car elle se trouve en beaucoup plus forte proportion dans les globules que dans le sérum. Ce qui n'est pas moins certain c'est

que quelques tissus fournissent une partie de la cholestérine du sérum. L'expérience de Flint est décisive pour le système nerveux puisqu'il trouve plus de cholestérine dans le sang des veines que dans celui des artères. (0 gr. 967 par litre dans la carotide, 1 gr. 54 dans la jugulaire). »

En ce qui concerne la cholestérine de la bile qui nous intéresse plus particulièrement, une partie vient du foie ou elle résulte peut-être de la destruction des globules rouges, mais la plus grande partie vient des voies biliaires et plus spécialement de la vésicule comme semblent l'avoir établi les recherches de Nauyn, de Kausch, de Doyon et de Dufourt. Ces derniers auteurs ont montré que la bile contenait 0 gr. 1 à 0 gr. 3 de cholestérine pour 1000 grammes.

La cholestérine appartient au groupe des lipoides, c'est-à-dire, d'après Overton, « à un groupe de substances qu'on peut extraire des humeurs ou des parenchymes par les dissolvants des matières grasses tels que l'éther, le chloroforme, le benzol, etc. » C'est un lipotide aphasphoré se rapprochant beaucoup des graisses par certains caractères chimiques.

Dans l'organisme, à l'état normal, elle est en dissolution dans les divers milieux où on la trouve : elle y est maintenue grâce à la présence de sels alcalins. A l'état pathologique et en particulier dans la bile, elle précipite et prend part à la constitution des calculs biliaires. C'est en général de ces calculs qu'on extrait la cholestérine pour étudier ses caractères physiques et ses propriétés chimiques.

Pour cela, on pulvérise le calcul qui est traité à plusieurs reprises par l'alcool bouillant. On filtre à chaud et on laisse déposer la cholestérine. Pour enlever les corps gras entraînés par l'alcool, on traite le résidu par une solution de potasse dans l'alcool, puis on laisse évaporer. On ajoute ensuite de l'éther qui dissout la cholestérine seulement, on filtre, on laisse évaporer et on obtient ainsi la cholestérine cristallisée.

C'est une substance blanche, brillante, légère, douce au toucher. Elle se présente sous la forme de lames rectangulaires obliques, à angles écornés. Précipitée par l'alcool bouillant, elle se présente sous la forme de grandes tables rhomboédriques ; au moyen du chloroforme et de l'éther anhydre, elle cristallise sous forme de longues aiguilles. Elle est insoluble dans l'eau, très peu soluble dans l'alcool à froid, mais soluble dans 8 ou 9 parties d'alcool à chaud ; elle est très soluble dans l'éther (1 gramme dans 2 gr. 20 d'éther ordinaire à 37°5 (Morat et Doyon), dans le chloroforme, dans le sulfure de carbone, dans la térébenthine. Elle est également soluble dans l'acide acétique cristallisable, très légèrement soluble dans les graisses, les huiles végétales ou dans les solutions aqueuses de sels biliaires. Elle fond à 137 degrés, se volatilise à 350 degrés, son pouvoir rotatoire est de 32 à 34 degrés, elle est lévogyre.

Elle peut s'unir aux acides à chaud et donner des éthers. Nous ne saurions insister sur ses composés

tels que le benzoate ou l'acétate de cholestérine pas plus que sur ses dérivés hydrocarburés tels que le cholestène, le cholestérolène, etc.

Les acides précipitent la cholestérine, de même que les iodures, les bromures, les nitrates, le sulfate de magnésie.

Elle se distingue des corps gras :

1° Parce qu'elle n'est pas saponifiable ;

2° Parce qu'elle ne se dissout pas dans les alcalis en donnant des savons solubles.

La cholestérine présente en outre une série de réactions colorantes qui permettent de la reconnaître très facilement :

1° Après avoir évaporé une dissolution de cholestérine dans le chloroforme, on ajoute une goutte de perchlorure de fer et une goutte d'acide chlorhydrique, on voit apparaître au fur et à mesure de l'évaporation une teinte violette qui devient de plus en plus foncée et passe ensuite au noir (Schiff) ;

2° Si l'on fait agir sur des cristaux de cholestérine de l'acide sulfurique concentré, on obtient une coloration rouge rubis qui vire ensuite au violet. Cette réaction indiquée par Obermuller a une grosse importance pour les recherches microscopiques de cholestérine. Si l'on place quelques cristaux de cholestérine sous une lame de verre, si l'on recouvre ensuite d'une lamelle et si l'on place quelques gouttes de la solution d'acide sulfurique concentrée sur les bords de la lamelle, on voit une coloration rouge vif, puis rouge jaune, virant ensuite au violet ;

3° Une autre réaction qui permet également de reconnaître la cholestérine au microscope est la réaction indiquée par Hammarsten (1). Après avoir fait agir de la même manière que précédemment l'acide sulfurique concentré, on ajoute quelques gouttes d'une solution iodo-iodurée, on voit les cristaux se colorer en brun, puis en violet, puis devenir bleu clair ;

4° Si l'on ajoute à 2 centimètres cubes d'une solution chloroformique, dix gouttes d'anhydride acétique et une goutte d'acide sulfurique concentré, en chauffant un peu, le mélange prend tout d'abord une coloration rose, rouge, puis vire ensuite au bleu (Liebermann).

Enfin, nous pouvons encore signaler, comme réaction colorante de la cholestérine, celle indiquée par Deniges (2). Cette réaction serait beaucoup plus sensible que les précédentes : On agite vivement une solution de cholestérine dans le chloroforme, on ajoute la moitié de son volume d'acide sulfurique. On fait ensuite tomber dans la couche de chloroforme surnageante une à cinq gouttes d'anhydride acétique, on voit apparaître une teinte carmin tirant au violet dans la couche de chloroforme tandis que la couche d'acide sulfurique sous-jacente prend une teinte rouge sang.

1. Hammarsten. *Chimie physiologique*, 1904, p. 284.

2. Deniges. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, février 1903.

Tels sont les procédés qui permettent de déceler la présence de la cholestérine. Mais si les procédés de recherche qualitative ont leur importance, la recherche quantitative peut, dans certains cas, être nécessaire, nous indiquerons donc le procédé de dosage le plus usuel, indiqué par Hoppeseyler, Doyon et Dufourt :

Après avoir évaporé la bile au bain-marie à 100 degrés, on fait bouillir le résidu pendant dix ou quinze heures, avec de l'alcool absolu, on filtre à chaud. On traite le résidu plusieurs fois par l'éther qui entraîne les savons, les graisses et la cholestérine, laissant sur le filtre les acides biliaires. Au bout de deux ou trois jours, quand les acides biliaires sont précipités, on évapore ; on traite le résidu par l'éther absolu qui ne dissout que les graisses et la cholestérine. Il faut alors reprendre les graisses et la cholestérine par l'alcool bouillant. On saponifie les graisses par une solution de potasse caustique, au bain-marie à 100 degrés pendant deux à trois heures ; on évapore l'alcool et on traite le résidu par l'eau mélangée d'éther absolu à parties égales. On pratique plusieurs fois cette manipulation, on laisse ensuite évaporer à siccité ; le résidu obtenu est constitué par la cholestérine renfermant encore des traces de savon qu'on entraîne par l'eau.

Telles sont les propriétés physiques et chimiques de la cholestérine, il nous reste à exposer quelles sont ses propriétés physiologiques.

Pendant longtemps, la cholestérine fut considérée

uniquement comme un produit de déchet, « pouvant apparaître, d'après Hugounenq et Doyon, partout où il y a activité cellulaire. Les recherches de Phisalix, de Ranson, de Hansman, Noguchi, Abderhalden et Lecounte, de Gerard et Lemoine et d'Iscovesco ont montré que cette substance joue dans l'organisme un autre rôle aussi important.

Phisalix (1) montra que la cholestérine a un grand pouvoir antitoxique. Injectant à un cobaye une solution éthérée de cholestérine à la dose de 2 à 5 centigrammes, il produisit une immunité contre une dose de venin mortelle en cinq ou six heures pour le cobaye témoin. Le pouvoir antitoxique est assez puissant, d'après cet auteur, pour pouvoir s'exercer cinq à dix minutes après l'inoculation du venin.

Ranson (2) établit que, à côté du pouvoir antitoxique, la cholestérine jouissait d'une seconde propriété non moins importante : une grande puissance anti-hémolytique. On sait que certaines substances telles que le ricin, la saponine sont très hémolysantes, Ranson montra que si on ajoute *in vitro* de la cholestérine à une solution de saponine, celle-ci perdait ses propriétés hémolytiques.

Tallquist (3), après avoir anémié des animaux, en leur administrant des extraits alcooliques et éthérés de botriocéphale jouissant d'un grand pouvoir hémolytique, montra que la cholestérine est capable d'at-

1. Phisalix. *Compte rendu. Soc. de Biologie*, 1897, p. 1057.

2. Ranson. *Deutsche Med. Wochenschrift*, 1901.

3. Tallquist. *Zeitschr. f. Klin. Medicin*, 1907.

ténuer beaucoup la toxicité de ces substances.

Salkowski (1) fit ressortir le rôle capital joué par la cholestérine contenue dans le sérum sanguin comme agent de défense contre les substances hémolytiques produites dans l'organisme ou provenant des aliments.

Iscovesco démontra que d'une manière générale l'action des sérums hémolytiques est considérablement atténuée et même pour certaines doses complètement annihilée par la cholestérine. Alors que 5 centimètres cubes d'une purée de globules de cheval à 5 o/o étaient complètement hémolysés par six gouttes de sérum de chien, ils ne l'étaient pas du tout après trois quarts d'heures d'étuve à 37 degrés même avec dix gouttes de ce sérum quand on lui avait préalablement ajouté 1 o/o de cholestérine. Il pense en outre que sur les 6 ou 7 grammes de cholestérine qui sont déversés en vingt-quatre heures dans l'intestin de l'homme adulte, une partie est oxydée constituant la stercostérine, mais une autre partie doit être utilisée pour la digestion des graisses qui sont puissamment hémolytiques et il émit l'idée que les phénomènes de fermentation intestinale dans les ictères étaient dus à l'absence de cholestérine.

Le rôle de défense que joue la cholestérine contre les toxines amena Iscovesco à utiliser cette substance en thérapeutique. Il a vu que la cholestérine était bien supportée à la dose de 1 gr. 50 par jour et il

1. Salkowski, *Berl. Klin. Wochenschr.*, 1906.

obtint une augmentation considérable des globules rouges dans les anémies, des améliorations rapides chez les lymphatiques.

Gérard et Lemoine (1), qui ont étudié l'action antitoxique de la cholestérine sur le poison tuberculeux chez les animaux et chez l'homme, concluent que la cholestérine a une action d'arrêt sur le processus tuberculeux et, dans une communication récente, faite au Congrès de Médecine de Genève (2) ils ont montré que chez les malades traités par des produits extraits des lipoïdes biliaires, les bacilles disparaissent des crachats.

Il résulte donc de l'ensemble de ces travaux que la cholestérine, grâce à sa diffusion dans l'organisme, grâce à ses propriétés antitoxique et antihémolytique constitue un des meilleurs moyens de défense contre les intoxications.

1. Gérard et Lemoine. Soc. méd. des Hôpitaux. Paris, 1907, 26 nov.

2. Gérard, Lemoine et Lecelier. Congrès de Médecine. Genève, 1908.

CHAPITRE III

Conditions de précipitation de la cholestérine « *in vitro* »

Après ce bref exposé des propriétés physiques et chimiques de la cholestérine dont la connaissance nous a été indispensable au cours de nos expériences, nous nous proposons, dans ce chapitre, de rechercher quelles sont, *in vitro*, les causes qui interviennent pour précipiter la cholestérine de la bile.

Le rôle indiscutable des microbes, nettement établi par les travaux de Gilbert et de ses élèves dans la production de la lithiase biliaire, nous a amenés tout d'abord à rechercher quelle pouvait être leur action sur la bile en dehors de l'organisme.

Gérard ensemença avec du colibacille une solution de sels biliaires saturée de cholestérine ; au bout de deux à trois jours, la culture se troubla et laissa déposer un sédiment cristallin qu'il reconnut être de la cholestérine. Kramer (1), se basant sur l'analogie qu'il pourrait y avoir entre les calculs biliaires et les calculs urinaires, qui doivent leur formation à des modi-

1. Kramer. *Journal of experimental Medicine*, 1907.

fications chimiques causées par les microbes, enseigna des tubes de bile et de bouillon à parties égales filtrés et stérilisés avec du colibacille, du bacille typhique et du staphylocoque doré. Au bout de plusieurs mois de séjour à l'étuve, il trouva un précipité dans les tubes ensemencés avec le colibacille et le bacille d'Eberth, mais rien dans les tubes ensemencés avec le staphylocoque. Dans ce précipité d'ailleurs il n'y avait qu'une très petite quantité de cholestérine.

Bacmeister (1) plus récemment, reprenant les expériences de Kramer avec un plus grand nombre de microbes étudia les conditions dans lesquelles se faisaient les précipitations de cholestérine. Nous aurons l'occasion de comparer au cours de ce travail les résultats qu'il obtint avec les nôtres.

Dans toutes nos recherches, nous nous sommes servis de bile de bœuf filtrée et stérilisée à l'autoclave à 100 degrés pendant vingt minutes. Nous avons laissé reposer les tubes pendant deux jours et comme un très léger dépôt avait été constaté dans quelques-uns d'entre eux, nous avons refiltré la bile et stérilisé une deuxième fois de la même manière. Nous n'avons plus constaté de dépôt. La quantité de bile employée dans chacune de nos expériences varie entre 5 et 10 centimètres cubes. La quantité ne semble pas d'ailleurs avoir l'importance que Bacmeister a voulu lui donner. Cet auteur signale en effet qu'il obtint une forte précipitation de cholesté-

1. Bacmeister. *Münch Med. Woch.*, 1908.

rine cristallisée dans la bile filtrée et stérilisée parce qu'il avait employé 20 centimètres cubes de bile au lieu de 5 centimètres cubes dans ses expériences précédentes. Nous n'avons pas observé de fait semblable dans trois tubes où nous avons mis 20 centimètres cubes de bile filtrée et stérilisée. Après ensemencement de la bile, nous avons toujours capuchonné nos tubes à essai pour éviter l'évaporation.

Il nous faut tout d'abord justifier notre choix de bile de bœuf pour nos recherches.

Nous ne pouvions songer à employer la bile humaine recueillie sur le cadavre, car souvent, comme Naunyn l'a constaté, cette bile a laissé déposer sur les parois de la vésicule, sous forme cristallisée, une partie de la cholestérine qu'elle tenait en dissolution.

La quantité de bile qu'on peut obtenir au cours d'interventions chirurgicales sur la vésicule biliaire est trop faible pour le nombre d'expériences que l'on se propose de faire. Elle présente un autre désavantage pour les recherches : celui d'être beaucoup plus épaisse que de la bile de bœuf ; il est par conséquent beaucoup moins facile d'observer ce qui se passe *in vitro*.

On pourrait également nous adresser un second reproche : celui de n'avoir fait nos recherches que sur des biles stérilisées.

Mais la bile recueillie aseptiquement chez l'animal laisse toujours par le repos un léger dépôt se former

au fond du tube à essai, dépôt qui augmente quand on la stérilise.

De plus il est difficile lorsqu'on opère sur la bile non stérile de déterminer la part qui peut revenir aux anaérobies qu'on y trouve à l'état normal et la part du microbe en expérience dans la précipitation de la cholestérine.

Ces diverses raisons nous ont fait choisir pour nos expériences la bile de bœuf que nous filtrons et stérilisons. On observe fréquemment chez le bœuf la lithiase biliaire comme chez l'homme. La bile est très fluide, il est facile d'y constater le plus léger précipité. Sa grande abondance permet de multiplier les recherches.

Nous avons en premier lieu cherché quelle était l'influence de la virulence du microbe sur la précipitation de la cholestérine. Pour Mignot, chez l'animal la question la plus importante dans la reproduction expérimentale de la lithiase était le degré de virulence du microbe : « Il faut que la virulence soit aussi atténuée que possible, mais il faut aussi que le parasite vive et prolifère dans la bile. » — « Pour atténuer la virulence du microbe et pour l'habituer en même temps à vivre dans la bile, il suffit de le cultiver durant des mois dans de la bile additionnée de quantités de plus en plus faibles de bouillon ou de sérum ascitique. On peut arriver à la bile pure, mais dans ces cas, la culture peut mourir, il vaut donc mieux additionner la bile d'une très petite quantité de bouillon. »

Nous avons donc tout d'abord recherché si le microbe pouvait se développer dans la bile, s'il pouvait y vivre aussi longtemps que dans le bouillon. Nous avons donc mis dans un premier tube 2 centimètres cubes de bile et 6 centimètres cubes de culture d'Eberth de vingt-quatre heures en bouillon ; dans un second tube bile et bouillon à parties égales, dans un troisième, 6 centimètres cubes de bile et 2 centimètres cubes de bouillon, enfin dans un dernier tube quelques gouttes de la culture dans la bile pure. Au bout de deux mois tous nos tubes nous donnèrent des cultures d'Eberth montrant ainsi que le bacille typhique s'accommode aussi bien de la bile que du bouillon.

Dans une seconde série, nous avons cherché l'influence de l'âge de la culture sur la précipitation de la cholestérine de la bile. Nous avonsensemencé cinq tubes contenant 5 centimètres cubes de bile avec une quantité égale de culture sur bouillon de bacille d'Eberth, le premier avec une culture de vingt-quatre heures, le second une culture de cinq jours, le troisième une de huit jours, le quatrième de douze jours, enfin le cinquième avec une culture datant de un mois. Ces tubes mis à l'étuve, nous avons obtenu au trente-cinquième jour un léger précipité contenant quelques rares cristaux de cholestérine dans le troisième et le cinquième tube ; au cinquantième jour un précipité dans le premier ; au cinquante-cinquième dans le quatrième. Il semble donc que, *in vitro* tout au moins, l'atténuation de la virulence

Ensemencement de bile filtrée et stérilisée avec une culture en bouillon (2 cc.) de :		Age de la culture	Séjour à l'étuve		
			15 ^e jour	23 ^e jour	30 ^e jour
1	Colibacille	2 jours	o	o	Léger précipité (cholestérine)
2	id.	id.	o	o	Précipité (cholestérine)
3	id.	id.	o	o	o
4	Témoin		o	o	o
5	Eberth	2 jours	o	o	o
6	id.	4 jours	o	o	o
7	id.	8 jours	o	o	o
8	id.	12 jours	o	o	o
9	id.	1 mois	o	o	o
10	Témoin		o	o	o
11	Paratyphique A	2 jours	o	Léger dépôt	Précipité assez
12	id.	id.	o	sans cholestérine.	abondant
13	Témoin		o	o	o
14	Paratyphique B	2 jours	o	Précipité léger	Petits cristaux de cholestérine très nombreux
15	id.	id.	o	Cholestérine.	
16	Témoin		o	o	o
17	Staphylocoque	2 jours	o	o	o
18	id.	id.	o	o	o
19	Témoin		o	o	Précipité
20	Streptocoque	2 jours	o	o	o
21	id.	id.	o	o	o
22	Témoin		o	o	o
23	Lœffler	2 jours	o	Précipité léger	Précipité
24	id.	id.	o	(Cholestérine)	abondant
25	Témoin		o	o	o
26	Pyocyanique	2 jours	Précipité léger	Précipité	Cristaux
27	id.	id.	Cholestérine.	abondant.	cholestérine assez abondants.
28	Témoin		o	Quelques rares cristaux.	o
29	Subtilis	2 jours	o	o	o
30	id.	id.	o	o	Précipité léger
31	Témoin		o	o	Précipité

à 37°			Microbes retrouvés dans la culture
45° jour	60° jour	80° jour	
Précipité abondant. id. o o	Cholestérine en gros cris- taux. o o		Colibacille id. Stérile Stérile
o o Précipité (cho- lestérine). o Précipité (cho- lestérine). o	Précipité, cho- lestérine. Fins cristaux très nom- breux. Précipité abondant. o	Très nom- breux cris- taux de cho- lestérine. id. o	Eberth id. id. id. id. o
Cholestérine, cristaux as- sez volumi- neux. o			Paratyphique Stérile
Dépôt abon- dant de cho- lestérine. o			Paratyphique Staphylocoque et paratyphique stérile
o o —	Précipité. Cris- taux de cho- lestérine très clairsemés.		Staphylocoque id. Stérile
o o o	o o o		Streptocoque id. Stérile
Petits cristaux très nom- breux. o			Lœffler id. Stérile
Bile très épaisse. Nombreux cristaux. o			Pyocyanique id. Stérile
Petits cristaux très clairse- més.	—		Stérile

du microbe n'a pas une importance considérable sur la précipitation de la cholestérine.

Nous avons ensuite recherché l'action d'un certain nombre de microbes sur la bile ; leur pouvoir de précipitation de la cholestérine, le temps nécessaire à chacun d'entre eux pour amener cette précipitation. Nous allons indiquer sous forme de tableau les résultats que nous avons obtenus, nous proposant de les commenter après les avoir indiqués. Dans tous ces cas, nous avons ensemencés des tubes contenant 5 centimètres cubes de bile avec 2 centimètres cubes de culture sur bouillon de différents microbes. Nous avons mis nos tubes à l'étuve de 37 degrés et nous avons observé tous les huit jours les résultats obtenus. Nous avons en même temps placé dans les mêmes conditions un certain nombre de tubes témoins pour observer s'il ne se ferait pas quelque précipitation de cholestérine sans intervention microbienne. Nous avons pu suivre ainsi pas à pas les modifications produites dans la bile par les différents microbes, nous avons assisté aux premières phases de la précipitation de la cholestérine et par conséquent au premier degré de la formation des calculs. Les modifications physiques et chimiques de la bile que nous aurons pu observer en même temps nous aideront peut-être à comprendre ce qui se passe chez l'animal et nous permettront de déterminer dans quelles conditions se produisent les calculs biliaires.

La première remarque qui se dégage de cet exposé, c'est que la plupart des microbes aérobies peuvent *in vitro* précipiter la cholestérine. Nous avons, à dessein, choisi à côté des microbes que l'on rencontre fréquemment dans les calculs comme le colibacille ou le bacille typhique, d'autres variétés comme le pyocyanique ou le subtilis que l'on ne rencontre pas dans les voies biliaires. Tous sauf le streptocoque nous ont donné une précipitation plus ou moins abondante de cholestérine, et il nous est permis de penser que, si la durée de nos expériences avait été plus longue, nous aurions obtenu même avec le streptocoque un résultat, car il n'avait pas disparu de la bile et les cultures sur gélose au soixantième jour nous ont donné un résultat positif.

Le temps nécessaire pour produire cette précipitation est variable pour chacun d'entre eux. Tandis qu'on trouve déjà de petits cristaux de cholestérine isolés dans la bile ensemencée avec le pyocyanique dès le quinzième jour de séjour à l'étuve, d'autres tubes ensemencés avec le bacille d'Eberth ne nous ont donné de résultat semblable que vers le quarante-cinquième jour ; d'autres enfin, comme le staphylocoque, n'ont présenté que quelques rares cristaux vers le soixantième jour. Dans presque tous les cas nous avons retrouvé dans la bile le microbe que nous y avions ensemencé, cependant quelques-uns des tubes étaient stériles.

Il nous aurait paru intéressant de rapprocher les résultats obtenus avec les microbes aérobies de ceux

obtenus avec les anaérobies. Gilbert et Lipmann ont montré en effet dans les calculs biliaires la présence des anaérobies, tels que le *bacillus funduliformis*, l'entérocoque qui sont les plus fréquemment rencontrés, le *bacillus fragilis*, le *perfringens*, le *micrococcus foetidus*, etc. Mais outre la difficulté de se procurer ces microbes, leur fragilité ne permet pas d'observer leur action sur la bile filtrée et stérilisée. Nous n'avons d'ailleurs expérimenté parmi ces microbes fragiles qu'avec le *perfringens* qui disparut de la bile au bout de cinq à dix jours. Au contraire, nous avons essayé l'action sur la bile de bacilles anaérobies plus résistants qui ne jouent aucun rôle dans la lithiase biliaire, tels que le tétanos, le vibrion septique, le *putrificus*.

Nous consignons dans le tableau ci-dessous les résultats obtenus avec ces anaérobies stricts, ainsi que ceux obtenus en milieu anaérobie, par le colibacille et le pyocyanique.

Ensemencement en milieu anaérobie de bile avec :	4 ^e jour —	6 ^e jour —	12 ^e jour —	16 ^e jour —	20 ^e jour —	Microbes retrouvés
Tétanos	Trouble très marqué	Léger dépot	Dépôt abondant pas de cholest.	Pas de cholestérine	Quelques cris- taux de cho- lestérine	Tétanos
Vibron septique	Id.	Pas de dépôt	Dépôt léger sans cholest.	Pas de cholestérine	Pas de cholestérine	Vibron septique
Putrificus	Léger dépôt	Dépôt abondant	Pas de cholestérine	Id.	Quelques fins cristaux de cholestérine	Putrificus
Perfringens	Très léger trouble	Trouble disparaît	o	o	o	Sterile
Colibacille	Culture abondante	Précipité léger	Précipité assez abon- dant	Précipité augmente	Cholestérine assez nom- breux cristaux	Colibacille
Pyocyanique	Léger trouble	Pas de Précipité	Précipité très léger	Pas de cholestérine	Cholestérine gros cristaux très peu nombreux	Pyocya- nique

La trop courte durée de ces dernières recherches ne nous permet pas de donner des conclusions certaines sur l'action des microbes en milieu anaérobie, nous nous proposons de les continuer et même de les étendre à une plus grande quantité de microbes.

Cependant, une remarque intéressante nous a engagés à en faire mention, quoique les résultats soient tout à fait incomplets. C'est que les matériaux solides de la bile semblent précipiter beaucoup plus tôt sous l'influence des mêmes bacilles (colibacille, pyocyanique) en milieu anaérobie qu'en milieu aérobie. Dès le quatrième jour, en effet, nous observons un dépôt qui n'apparut que le trentième jour pour le colibacille, le quinzième jour pour le pyocyanique. Au vingtième jour, nous avons observé quelques rares cristaux de cholestérine dans le dépôt des tubesensemencés avec le bacille tétanique, le putridicus, par contre le vibrion septique n'a amené aucune précipitation.

Quant au colibacille et au pyocyanique, il semble qu'ils précipitent plus rapidement en milieu anaérobie qu'en milieu aérobie la cholestérine.

Si maintenant nous suivons pas à pas les modifications observées dans nos tubesensemencés avec des microbes aérobies, nous voyons que pendant six à huit jours la bile reste claire, limpide; puis, au bout d'un temps variant de huit à quinze jours, il se forme un trouble uniforme sur toute la hauteur du liquide, trouble qui va en augmentant, jusqu'à ce qu'on voit apparaître dans le fond du tube un très

léger dépôt verdâtre qui augmente de jour en jour. L'examen microscopique n'y révèle aucune trace de cholestérine cristallisée. Si on traite ce résidu filtré par l'acide sulfurique concentré, en ajoutant quelques gouttes de sirop de sucre on voit le mélange prendre une coloration violette, réaction indiquée par Pettenkofer comme caractéristique de la présence d'acides biliaires. Puis commencent à apparaître quelques cristaux très petits dans certains cas, plus volumineux dans d'autres, mais toujours très clairsemés, si bien qu'il faut faire plusieurs champs du microscope pour en trouver quelques-uns. Peu à peu leur nombre augmente, en même temps que leurs dimensions et bientôt on peut en trouver 10 ou 12 dans certains champs, quelquefois même ils sont placés les uns au-dessus des autres.

Nous avons également observé dans certains cas, mais non dans tous, cet état intermédiaire entre la cholestérine dissoute dans la bile et la cholestérine cristallisée, que signale Bacmeister et que Naunyn avait décrit comme la première étape de la formation des calculs biliaires. « Dans les préparations, dit Bacmeister, on observe à côté des cristaux de cholestérine, des gouttes claires, plus ou moins grandes et qui peuvent être comparées à de petites gouttes adipeuses d'autant plus qu'elles sont aussi réfringentes. »

« Ces gouttes, dit-il plus loin, apparaissent tout d'abord si petites qu'on ne peut les voir que par immersion et qu'on est tenté de les prendre pour

des coecis. Mais même à ce volume on les distingue à leur vif éclat. Ces gouttes confluent toujours en de plus grands amas, mais elles perdent alors leur brillant adipeux et forment souvent des masses irrégulières allongées qui s'agglomèrent et prennent un aspect mat. L'acide acétique transforme ces agglomérations en touffes d'aiguilles.» Nous devons ajouter que ces gouttes ne tardent pas à perdre leur contour arrondi et à présenter des angles aigus et des bords droits, tranchants, puis peu à peu on obtient des cristaux de cholestérine. Dans les différentes préparations, nous avons souvent observé à côté des cristaux typiques les différents intermédiaires entre la cholestérine amorphe et la cholestérine cristallisée.

L'intervention nécessaire des microbes dans la précipitation de la cholestérine est encore bien mise en évidence par les deux expériences suivantes :

Nous avons placé dans un tube de bile stérile un petit calcul biliaire du poids de 11 centigrammes environ trouvé dans une vésicule biliaire, passé au préalable à l'autoclave ; nous avons, dans un autre tube, placé un second calcul stérile semblable au premier du poids de 9 centigrammes et nous avons ajouté 2 centimètres cubes d'une culture sur bouillon de colibacille. Les deux calculs furent décomposés et l'on trouva au bout de trente jours de séjour

1. Bacmeister. *Munch. Med. Woch.*, 11 février 1908, p. 283.

à l'étuve à 37 degrés dans le tube stérile un dépôt très léger de beaucoup inférieur au poids du calcul introduit, tandis qu'au contraire dans le tubeensemencé avec le colibacille, le dépôt était beaucoup plus considérable en volume et en poids que celui du calcul.

Dans une seconde série d'expériences nous avons placé des fragments d'épithélium biliaire recueillis aussi aseptiquement que possible à l'autopsie d'un adulte ne présentant pas de lésions vésiculaires. Nous les avons placés la moitié dans des tubes de bile stériles, l'autre moitié dans des tubes de bile et de culture sur bouillon de colibacille. Il y eut un très léger dépôt dans les premiers au bout de vingt jours, tandis que dans les seconds le dépôt était relativement abondant et présentait d'assez nombreux cristaux de cholestérine. Nous devons ajouter d'ailleurs que dans deux des premiers tubes, il avait poussé du staphylocoque.

Cette double série de recherches montre :

D'abord le rôle nécessaire de l'infection pour assurer *in vitro* la précipitation de la cholestérine.

Elle montre en outre que les corps étrangers jouent un rôle dans cette précipitation *in vitro* comme nous le verrons plus loin *in vivo*. Ils activent la précipitation, mais à une seule condition : c'est qu'il y ait en même temps infection. Il ne faudrait pas d'ailleurs tirer de conclusion au sujet du rôle de l'épithélium. Il n'agit en la circonstance que comme corps étranger.

Après avoir montré le rôle capital joué par l'infection dans la précipitation de la cholestérine *in vitro*, il nous reste à montrer comment agissent les microbes. Leur présence ne suffit pas à produire cette précipitation. Nous avons en effetensemencé des tubes de bile avec des cultures sur bouillon de bacille d'Eberth, de colibacille, de pyocyanique ; nous les avons laissés deux jours à l'étuve puis passés à l'autoclave à 100 degrés pendant un quart d'heure. Replacés à l'étuve les tubes n'ont jamais présenté de précipité. Les bactéries n'agissent donc pas comme corps étrangers. Nous avons pensé qu'elles pouvaient alors agir par leurs toxines et nous avons, dans une nouvelle série d'essais, essayé l'influence sur la bile de toxines variées, obtenues par filtration des cultures sur bouillon de quatre jours à l'aide du filtre Martin ; pour le bacille typhique nous avons obtenu cette toxine suivant le procédé de Lépine et Lyonnet. Nous avons obtenu plus rapidement un précipité qu'avec les cultures sur bouillon des mêmes bacilles, mais les cristaux de cholestérine demeurèrent assez rares, quoique leur présence fût constatée dans chacun des tubes. Nous donnons dans le tableau ci-dessous les résultats obtenus avec les toxines diphtérique, tétanique, colibacillaire, typhique.

Toxines	8 ^e jour	15 ^e jour	23 ^e jour	30 ^e jour	Observations
Diphthérique	o	Léger précipité	Précipité pas de cholestérine	Cholestérine	Dans tous les cas les cristaux de cholestérine sont très peu nom- breux et très petits —
Tétanique	o	Léger précipité	id.	Cholestérine	
Typhique	o	o	Léger précipité	Cholestérine	
Colibacillaire	Très léger précipité	Précipité assez abondant	Quelques rares cristaux de cholestérine	Cholestérine	

Il semble donc que les toxines sont capables d'amener la précipitation de la cholestérine de la bile comme les microbes. Dans certains cas, elles agissent même plus rapidement. Il est probable que nous aurions eu des cristaux de cholestérine aussi volumineux si nos recherches avaient eu une plus longue durée. L'intérêt tout particulier que présente cette précipitation causée par les toxines, c'est qu'elle permet de concevoir la possibilité de l'existence de lithiases biliaires d'origine chimique sans intervention microbienne comme Hunter en a déjà émis l'hypothèse, et comme Gilbert et ses élèves en cherchent la réalisation expérimentale chez l'animal.

Il semble bien en effet que, *in vitro* tout au moins, ce soit des modifications chimiques du milieu causées par les microbes ou leurs toxines qui amènent cette précipitation de cholestérine.

Bien que ces recherches soient plutôt du domaine du chimiste, qu'elles soient très délicates, nous avons cru devoir mentionner les quelques remarques que nous avons pu faire.

On ne saurait invoquer comme cause de précipitation, la concentration de la bile. En effet dans tous nos tubes à essai même capuchonnés, nous avons observé, comme Bacmeister d'ailleurs, une diminution de la quantité du liquide, qui, dans certains tubes, était passé de 5 centimètres cubes à 3 centimètres cubes. Nos tubes témoins, dont la moitié n'avait pas été capuchonnée à dessein, présentait une

plus grande diminution du liquide, due à l'évaporation, sans présenter le moindre précipité. D'ailleurs comme la cholestérine est maintenue en dissolution dans la bile grâce aux sels alcalins des acides biliaires, en particulier au glycocholate de soude chez le bœuf, la concentration de la bile n'a qu'une importance tout à fait secondaire.

Nous avons, d'autre part, placé dans quelques tubes de bile, de la cholestérine cristallisée en quantité variable pour chacun d'entre eux. Dans la plupart la cholestérine était dissoute dans la bile, dans les autres, il y avait un léger dépôt au fond du tube, mais beaucoup moins considérable que celui qu'aurait formé la cholestérine mise dans le tube. Ce qui s'explique d'ailleurs facilement, d'après Naunyn, par la présence dans la bile d'une quantité de sels biliaires supérieure à celle qui est nécessaire pour maintenir la cholestérine en solution. Mais dès qu'on ajoute une culture sur bouillon de colibacille la précipitation se fait assez rapidement entre le douzième et le quinzième jour.

Cette précipitation doit-elle être attribuée à une modification du milieu alcalin qui deviendrait acide, comme le voudrait Bouchard ?

Aucun de nos tubes n'a présenté au tournesol de réaction acide. Nous avons alors cherché si l'alcalinité de la bile avait été modifiée par la présence des microbes. Nous avons voulu doser avec une solution d'acide sulfurique décinormale. Nous avons alors obtenu les résultats suivants :

Avec le paratyphique A et le colibacille, après soixante jours de séjour à l'étuve, l'alcalinité ne s'était pas modifiée ;

Avec le bacille typhique, le bacille diphtérique, elle était très légèrement diminuée ;

Avec le pyocyanique, elle était augmentée d'une façon très notable.

L'action des microbes ne s'exerce donc pas en transformant le milieu alcalin en milieu acide.

Cette précipitation est-elle alors sous la dépendance d'une diminution des sels biliaires dans la bile. Gérard, dans ses recherches expérimentales dont nous avons parlé précédemment (1), ayant obtenu du glycocholle provenant du dédoublement de l'acide glycocholique dans ses cultures de colibacille en solution de sels biliaires saturée de cholestérine, conclut « que l'apparition du colibacille dans la bile diminue la teneur de ce liquide en sels biliaires, lesquels ne sont plus en quantité suffisante pour dissoudre la cholestérine qui se dépose et devient l'amorce d'un calcul ».

Au cours de nos recherches, nous avons mentionné que nous avons toujours trouvé dans nos tubes, précédant la précipitation de la cholestérine, un dépôt présentant la réaction de Pettenkoffer, c'est-à-dire la réaction des acides biliaires.

Le résultat de l'infection biliaire serait donc une

1. Gérard, p. 5.

décomposition des sels biliaires s'accompagnant d'un dédoublement des acides biliaires. Puis la bile ne présentant plus une quantité de sels biliaires suffisante pour maintenir la cholestérine dissoute, celle-ci se précipiterait ensuite. Il eût été intéressant de rechercher expérimentalement l'influence de la diminution de la quantité des sels biliaires dans une bile filtrée et stérile. La difficulté de ces recherches ne nous a pas permis de les entreprendre *in vitro*.

Il nous paraît donc, en résumé, que la précipitation de la cholestérine dépend de l'infection biliaire, que la plupart des microbes peuvent la produire et que ceux-ci semblent agir par leurs toxines pour modifier la teneur de la bile en sels biliaires.

CHAPITRE IV

Conditions de précipitation de la cholestérine « *in vivo* »

Dans ce chapitre, nous nous proposons d'exposer les résultats observés *in vivo* et de les comparer à ceux que nous avons obtenus *in vitro*. La longue durée des observations *in vivo* ne nous a pas permis de faire des recherches personnelles, nous nous contenterons de rapporter et de résumer quelques résultats obtenus par certains auteurs comme Mignot, Carmichael, Harley et Barratt et nous essaierons de dégager de ces recherches les conditions nouvelles qui doivent exister *in vivo* pour amener la précipitation de la cholestérine.

Nous éliminerons immédiatement l'influence que peut jouer sur cette précipitation l'alimentation. M. Bouchard admet en effet « que la cholestérine peut se précipiter si elle est introduite ou produite en excès, si elle n'est pas brûlée dans l'organisme, si, par conséquent, elle arrive en trop forte proportion dans le liquide biliaire ». Dès 1891, Naunyn montrait la constance de la quantité de cholestérine et de chaux dans la bile quel que soit le mode d'ali-

mentation. Et tandis que Goodmann admettait que, chez le chien, une alimentation riche en albumine augmente la quantité de cholestérine de la bile, Jankau démontre que l'alimentation n'a aucune influence sur la teneur de la bile en cholestérine, la quantité de cholestérine dissoute étant à peu près constante dans la fistule biliaire des chiens et des lapins, quel que soit le mode d'alimentation. Thomas et Jankau montrèrent également que le résultat était le même, en injectant la cholestérine dans la veine. D'ailleurs alors même que la quantité de cholestérine serait légèrement augmentée, il n'en résulterait pas une précipitation de cette substance car Naunyn a montré qu'il existe dans la bile une quantité de sels biliaires bien plus considérable que celle qui est nécessaire pour maintenir dissoute la quantité de cholestérine qu'on y trouve à l'état normal.

Aussi laissant de côté l'influence du régime, les différents expérimentateurs ont-ils cherché surtout à produire la précipitation de la cholestérine :

Soit en ligaturant complètement ou incomplètement le cholédoque ;

Soit en introduisant des corps étrangers aseptiques ou septiques.

La ligature du cholédoque n'a jamais amené de précipitation des éléments de la bile ; on a observé dans ces cas des lésions de cholécystite, mais jamais d'ébauche de calcul biliaire. Cependant nous devons ajouter que si la stase ne suffit pas à amener la précipitation de la cholestérine, elle joue un rôle capital

comme adjuvant, en présence de l'infection microbienne en favorisant le développement des bactéries, comme nous le verrons plus loin. Ehret et Stolz prétendent qu'aucun résultat ne peut être obtenu en introduisant du colibacille dans la vésicule biliaire si la bile s'écoule librement, mais que, au contraire, dès qu'un corps étranger vient léser sa motilité et ralentir ou interrompre son écoulement, la précipitation s'observe. L'épaississement des différentes couches de la vésicule, leur envahissement par le tissu fibreux, comme on l'observe dans les cholécystites calculeuses, sont un obstacle à la contractilité de la vésicule et favorisent la stagnation de la bile.

Quant au rôle des corps étrangers pour activer cette précipitation, les résultats obtenus par les différents auteurs Labes, Fournier, Mignot, Carmichael, Harley et Barratt, sont à peu près les mêmes. Labes introduisit des fragments de calcul dans la vésicule du chien, il observa dans tous les cas, au bout de deux mois, une diminution de volume du calcul. Fournier introduisit des fils de soie aseptiques et ne les retrouva plus au bout de cinq mois. Mignot donne comme conclusions de ses recherches sur l'action des corps étrangers introduits dans la vésicule biliaire de cobayes que « les corps étrangers non irritants par leur contact ou même avec aspérités peuvent, lorsqu'ils sont aseptiques, séjourner dans la vésicule biliaire sans l'enflammer, sans qu'il se fasse aucun précipité dans la bile, sans qu'il y ait par conséquent la moindre tendance à la formation des calculs

même si la stagnation biliaire est faite ». Harley et Barratt introduisant des fragments de calculs aseptiques n'obtinrent aucun résultat.

Lorsqu'en même temps il y a infection de la vésicule Mignot n'a observé aucune précipitation de cholestérine lorsque les microbes étaient très virulents. Il se produisait une cholécystite plus ou moins intense s'accompagnant d'un dépôt de boue biliaire au fond de la vésicule. Il n'a jamais observé comme Marcantonio de dépôts en couches stratifiées autour des corps étrangers.

Lorsque, au contraire, la virulence des microbes est atténuée, condition essentielle pour Mignot, « on peut à coup sûr à chaque expérience obtenir des calculs, mais ce procédé ne réalise qu'un fait pathologique exceptionnel et peut donner prise à la critique ».

« Parcontre quand la vésicule de l'animal est débarrassée de tout corps étranger, la formation des calculs se fait très probablement comme dans les vésicules biliaires. » Bien que les animaux mis en expérience ne présentent pas spontanément de lithiase biliaire, dans la moitié des cas Mignot obtint de petits calculs au moyen du colibacille chez le cobaye. Gilbert obtint en même temps des résultats analogues chez le lapin. Et si le colibacille et le bacille typhique sont le plus souvent la cause de la précipitation de la cholestérine, il faut ajouter, d'après Mignot, qu'on peut également en obtenir avec le staphylocoque, le streptocoque, le subtilis.

Il nous reste à préciser un dernier point tout particulièrement intéressant : c'est le rôle que joue l'épithélium de la muqueuse biliaire dans la précipitation de la cholestérine. A-t-il un rôle prépondérant comme le voulait Meckel, attribuant la formation des calculs aux altérations inflammatoires de la muqueuse biliaire? Celle-ci sécréterait un mucus anormal qui transformerait la bile alcaline en une bile acide et amènerait ainsi une précipitation de la cholestérine. Nous avons vu dans le chapitre précédent que cette transformation n'est pas utile pour produire ce résultat. Naunyn reconnaît que l'action microbienne doit être nécessaire. Mais les microbes agissent non pas en causant des modifications chimiques du milieu dans lequel ils se développent, mais en altérant l'épithélium biliaire qui produit alors un excès de cholestérine. « La production de la cholestérine par la muqueuse biliaire, dit Fournier, semble actuellement indéniable. Ainsi que le fait remarquer Naunyn, chez les individus âgés et chez les individus morts de tuberculose, de maladies de cœur, chez ceux surtout qui étaient atteints de lithiase, on trouve dans la bile des cellules épithéliales desquamées, en voie de dégénérescence ; de ces cellules on voit s'échapper de petites masses de cholestérine amorphe qui se réunissent çà et là en masses plus volumineuses d'apparence vitreuse, fortement réfringentes. On peut obtenir la cristallisation de ces blocs de cholestérine par l'addition d'acide acétique. » Il est certain que, à l'état normal, la cholestérine est fournie en partie

par l'épithélium vésiculaire. Les recherches de Doyon et Dufourt sur la teneur de la bile en cholestérine montrent que la bile obtenue par fistule ne contient que 0 gr. 28 à 0 gr. 30 0/00 de cholestérine chez le chien, tandis que la bile de vésicule en contient de 1 gr. 1 à 1 gr. 3 0/00. Il est vrai que l'on pourrait invoquer, avec Bunge (1) et Hoppe Seyler (2), qu'il se produit une résorption d'eau au niveau de la vésicule, car la bile de vésicule est beaucoup plus concentrée que la bile de fistule. Cependant la différence est trop sensible pour admettre simplement la concentration et pour nier toute intervention de l'épithélium biliaire.

Il se peut donc qu'à l'état pathologique cette sécrétion puisse être encore augmentée sans que pour cela la précipitation de la cholestérine ait lieu, Naunyn ayant lui-même montré comme nous l'avons dit plus haut que la quantité de sels biliaires suffirait à dissoudre une bien plus grande quantité de cholestérine que celle contenue normalement dans la bile.

Si l'on se base sur les lésions de cholécystite calculueuse trouvées chez le vivant, la muqueuse ne paraît pas intervenir activement dans la formation des calculs. Cornil examinant trois vésicules biliaires enlevées chez l'homme arrive aux conclusions suivantes : « La présence de calculs, dans les cholécystites chroniques détermine une hypertrophie, un

1. Bunge. *Cours de Chimie biologique et pathologique* traduit par Jacquet, p. 85 (1891).

2. Hoppe Seyler. *Physiologische Chemie*, p. 302 (1881).

épaississement inflammatoire des plis de la muqueuse qui se transforment en bourgeons irréguliers, laissant entre eux des dépressions pseudo-glandulaires. Ces bourgeons et plis sont recouverts d'une couche de cellules cylindriques. Dans les parties de la muqueuse accolées intimement ou unies au calcul, ces bourgeons sont remplacés par une surface planiforme de la muqueuse qui est là, dépourvue de cellules cylindriques ; les cellules de revêtement peuvent manquer ou devenir plates ou polyédriques, on trouve alors des vestiges des plis des enfoncements qui les séparent sous formes d'îlots de cellules polyédriques rondes ou pavimenteuses situées profondément dans le tissu conjonctif enflammé ». Si au lieu de nous adresser à des vésicules présentant de l'inflammation chronique, on observe des lésions récentes datant d'un mois par exemple, on peut avec Mignot trouver « une muqueuse rouge, enflammée, couverte d'une boue biliaire plus ou moins épaisse. En lavant un lambeau avec précaution dans l'eau on trouve en beaucoup de points de petites concrétions colorées, molles, adhérentes. Plus tard certaines concrétions augmentent, les autres se détachent et flottent dans la bile et sont expulsées. Celles qui sont adhérentes grossissent, se détachent et sont alors roulées dans cette boue biliaire formée surtout de cholestérine précipitée ».

Harley et Barratt dans leurs recherches faites sur des chiens en introduisant dans leur vésicule des calculs et des cultures de colibacille ont observé les

lésions épithéliales suivantes : « Les cellules épithéliales étaient recouvertes d'un dépôt amorphe ou finement réticulé, difficilement colorable et pouvant dans certains cas contenir des microbes. Les cellules épithéliales étaient gonflées et présentaient à leur centre un aspect clair, vacuolé, tandis que leur périphérie, plus sombre, apparaissait moins touchée. Les capillaires de la muqueuse étaient quelquefois congestionnés, mais il n'y avait pas d'infiltration cellulaire périvasculaire. »

Il nous est difficile de conclure au rôle actif de l'épithélium biliaire d'après ces lésions trouvées par les différents auteurs. Nous croyons que *in vivo* comme *in vitro* la lithiase peut être le résultat de transformations chimiques causées par la présence et le développement de microbes dans la bile. Les cellules épithéliales tombées dans la bile et provenant de la muqueuse biliaire qui présente des lésions de cholécystite jouent le rôle de centre de précipitation pour la formation des calculs.

CONCLUSIONS

La cholestérine, lipoïde aphosphoré, n'est pas seulement un produit de déchet normal ou pathologique. Elle jouit de propriétés antitoxique et antihémolytique.

In vitro, la plupart des microbes aérobies précipitent la cholestérine. Les toxines microbiennes la précipitent également.

Cette précipitation de la cholestérine est précédée d'une précipitation de sels biliaires, la bile reste alcaline.

In vivo, la stase et l'infection jouent le principal rôle tandis que l'épithélium biliaire paraît avoir un rôle tout à fait secondaire dans la précipitation de la cholestérine.

Vu : le Président de la thèse,
CHANTEMESSE

Vu : le Doyen,
POUCHET

Vu et permis d'imprimer :
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris
L. LIARD

BIBLIOGRAPHIE

- ADAMI et ASCHOFF. — On the myelins, myelin bodies on potential fluid crystals of the organism. *Proceedings Royal Soc. London*, 1906, p. 359.
- BACMEISTER. — Bakteriologische Untersuchungen der Cholelithiasis Münch. Mediz. Wochenschrift, n° 38, 1907.
- Der Ausfall des Cholesterins in der Galle und seine Bedeutung für die Pathogenese der Gallensteine. *Munch. Mediz. Wochens.*, 1908, nos 5, 6, 7.
- BOUCHARD. — Maladies par ralentissement de la nutrition, p. 79.
- CARMICHAEL. — The effect of introduction of foreign bodies into the gall bladder upon the deposit of calculus forming substances. *J. Path. and Bacteriol. Edimb.*, 1903, VIII, p. 492.
- CORNIL et SCHWARTZ. — Étude clinique et anatomo-pathologique de la cholécystite calculeuse. *Revue de Gynécologie et de Chirurgie abd.*, 1903.
- DOMINICI. — Thèse de Paris, 1894.
- DOYON et DUFOURT. — Recherches sur la teneur de la bile en cholestérine. *C. R. Soc. de Biologie*, 1896, p. 487.
- DUFOURT. — Rapport de l'infection biliaire et de la lithiase. *Lyon méd.*, 1893.

- EHRET et STOLZ. — Experimentale Beiträge zur Lehre von der Cholelithiasis. Berl. Klin. Woch., 1902, p. 13.
- FOURNIER (L.) — Origine microbienne de la lithiase biliaire. Thèse de Paris, 1896.
- GAUTIER. — Leçons de chimie biologique, p. 260.
- GÉRARD (E.). — Solubilité de la cholestérine animale dans quelques éléments de la bile. Contribution à l'étude de la formation des calculs biliaires. C. R. Soc. de Biologie, p. 348.
- GÉRARD et LEMOINE. — Congrès de Médecine, 1907.
- GÉRARD, LEMOINE et LEULIER. — Sur la composition des substances lipoides et leur rôle de défense contre les infections. Communication au Congrès de Médecine, 1908.
- GILBERT. — Note pour servir à l'histoire de la théorie microbienne de la lithiase biliaire. Arch. générales de Médecine, sept. 1898.
- GILBERT et DOMINICI. — De l'angiocholite et de la cholécystite colibacillaire expérimentale. C. R. Soc. de Biologie, 1894, p. 40.
- La lithiase biliaire est-elle de nature microbienne ? C. R. Soc. de Biologie, 1894, p. 485.
- GILBERT et FOURNIER. — Du rôle des microbes dans la genèse des calculs biliaires. C. R. Soc. de Biologie, 1896, p. 155.
- Lithiase biliaire expérimentale. C. R. Soc. de Biologie, 1897, p. 937.
- GILBERT et LIPMANN. — Du microbisme biliaire normal. C. R. Soc. de Biologie, 1903, p. 158.
- Contribution à l'étude bactériologique des calculs

biliaires, rôle des microbes anaérobies. C. R. Soc. de Biologie, 1907.

HAMMARSTEN. — Chimie physiologique, 1904, p. 284.

HANOT et LETIENNE. — Notes sur diverses variétés de lithiase biliaire. C. R. Soc. de Biologie, 1895.

HARLEY et BARRATT. — An experimental enquiry into the formation of gallstones. J. Physiol. London, 1903, p. 341.

HERTER. — The etiology and chemical pathology of gall stones. Med. News. New-York, 1903, p. 529.

ISCOVESCO. — Les lipoides. Presse médicale, 1908 (19 juillet, 19 août, 29 août 1908).

JANEAU. — Ueber cholesterin und kalkausscheidung mit der Galle, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., XXIX, p. 237.

LÉTIENNE. — De la bile à l'état pathologique. Thèse de Paris, 1891.

— Note sur un cas de cholécystite. Arch. gén. de Méd., déc. 1891.

KRAMER. — The pathogenesis of gallstones. J. of experiment. Med. N.-York, 1907, p. 319.

MARCANTONIO. — Genèse des calculs biliaires. Riforma Medica, 30 août 1892.

MIGNOT. — Origine microbienne des calculs biliaires. Arch. gén. de Méd., août 1898.

MORAT et DOYON. — Traité de Physiologie, t. IV, p. 214.

MONGOUR. — Précis des maladies du foie et des voies biliaires, 1905, p. 186.

NAUNYN. — Congrès de Médecine interne à Wiesbaden, 1891.

— Klinik der Choletithiasis. Leipzig, 1892.

PHISALIX. — C. R. Soc. de Biologie, 1897, p. 1057.

RIEDEL. — Ueber die Gallensteine. Berl. Klin. Woch., 1901,
p. 12.

THUDICHUM. — Ueber den chemischen prozess der Gallenstein-
krankheit beim Menschen und in Thieren Virchow's
Archiv., 1899, VI, 156.

WURTZ. — Dictionnaire de Chimie, t. I, p. 881.





